

LAPORAN
PENELITIAN KOMPETITIF KOLEKTIF
PROGRAM BANTUAN DANA PENELITIAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG

IDENTIFIKASI POLA 2D KHAS SPEKTRA INFRA MERAH
GELATIN TIPE B DARI TULANG BABI DAN SAPI



Oleh :
HIMMATUL BARROROH, M.Si
ABDUL HAKIM, S. Si, Apt.

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
DESEMBER, 2011

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil ‘Alamiin, puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT., karena dengan segala taufik dan inayahNya penulis telah dapat menyelesaikan penulisan laporan penelitian dengan judul **IDENTIFIKASI POLA 2D KHAS SPEKTRA INFRA MERAH GELATIN TIPE B DARI TULANG BABI DAN SAPI**. Bersama ini penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan kesempatan pengembangan keilmuan bagi penulis
2. Ketua Lembaga Penelitian dan Pengembangan UIN Maliki Malang atas kesempatan dan support pendanaan dalam melaksanakan penelitian
3. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang atas dorongan dan penciptaan atmosfer kondusif dalam pengembangan keilmuan
4. Ketua Jurusan Kimia UIN Maliki Malang atas support fasilitas selama penelitian
5. Prof. Sutiman B. Sumitro selaku konsultan yang telah memberikan masukan dan diskusi yang sangat bermanfaat.
6. Koordinator Laboratorium Kimia UIN Maliki Malang atas dukungan fasilitas dan administratif selama proses penelitian
7. Laboran dan Mahasiswa yang telah turut membantu penelitian ini
8. Suami dan keluarga atas dukungan moril, materiil dan spirituil.

Akhirnya penulis berharap hasil penelitian ini akan bermanfaat bagi agama, nusa dan bangsa serta pengembangan keilmuan kimia itu sendiri.

Malang, 31 Desember 2011
Penulis

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG PENELITIAN

Perkembangan pola konsumsi dewasa ini menunjukkan adanya praktek pencampuran makanan yang sangat massif. Hal-hal yang sering dilakukan adalah dengan memberikan bahan-bahan aditif bukan nutrisi, membuat makanan artifisial, mencampur bahan utama makanan demi murahnya ongkos produksi, bahkan sampai mengganti bahan makanan dengan bahan lain yang mirip. Salah satu bahan makanan yang secara luas digunakan adalah gelatin. Akan tetapi produk gelatin yang beredar tersebut 100% merupakan produk impor, sementara gelatin produksi luar negeri 70% dibuat dari babi, kulit maupun tulang. Selama ini dinyatakan MUI bahwa 100% produk gelatin yang beredar adalah produk non babi. Akan tetapi untuk mengantisipasi kekhawatiran adanya produk gelatin yang beredar dari pasar gelap yang tidak terpantau, maka perlu dipersiapkan instrument identifikasi kehalalan produk gelatin. Terjaminnya informasi yang benar, kehalalan dan kelayakan makanan yang dikonsumsi masyarakat merupakan tanggungjawab ulil amri, dan penyediaan metode yang baik dan sesuai kebutuhan merupakan tugas akademisi sebagai ibadah fardlu kifayah.

Adanya kandungan komponen bahan makanan yang mengandung babi dalam bahan dan produk pangan dapat diidentifikasi melalui lemak, protein maupun DNANYA. Protein merupakan bahan pembangun sel, seluruh organ tubuh makhluk hidup tersusun atas protein, karena itu identifikasi protein dapat digunakan untuk mengidentifikasi seluruh organ makhluk hidup termasuk kulit. Metode yang selama ini dikembangkan untuk uji keberadaan daging babi pada berbagai produk melalui identifikasi protein khususnya meliputi metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Boes, 2000) dan Elektroforesis (Aning, 2005), sementara uji DNA babi harus dilakukan dengan bantuan alat PCR (Protein Chain Reaction) (Boes, 2000).

Metode baru yang mulai dikembangkan sejak 2003 sampai sekarang yaitu menggunakan metode FTIR. Ditemukan adanya kekhasan vibrasi dari spektra infra merah pada bilangan gelombang $1680\text{-}1695\text{ cm}^{-1}$ dan $1075\text{-}1090\text{ cm}^{-1}$ pada sampel protein daging babi berbeda dengan protein daging sapi (Barroroh, 2009), merupakan indikasi awal bahwa metode FTIR ini dapat memberikan harapan untuk dapat dikembangkan sebagai metode identifikasi yang bersifat cepat, sederhana, mudah dan relative murah, tanpa melalui tahap preparasi kimia basah (*wet chemistry*) yang rumit. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dilanjutkan kajian karakteristik pola vibrasi molekuler khas protein gelatin tipe B dari tulang babi dan sapi dari data spektra FTIR dengan bantuan analisa data menggunakan metode *Second Derivative* (2D).

1.2. RUMUSAN MASALAH PENELITIAN

Dalam penelitian ini, masalah penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Apakah terdapat sifat pola spektra infra merah khas gelatin tipe B dari tulang babi dan sapi?
2. Apakah jenis moda vibrasi molekuler khas yang terdapat pada gelatin babi dan sapi tersebut?

1.3. BATASAN MASALAH

Penelitian ini dibatasi pada gelatin tipe B yang dibuat di laboratorium dari tulang babi dan sapi.

1.4. URGENSI PENELITIAN

Protein terdapat pada seluruh bagian makhluk hidup mulai rambut/bulu, kulit, daging, tulang, organ dalam sampai cairan darah. Kulit dan tulang hewan ternak baik sapi ataupun babi dapat diolah menjadi gelatin, bahan pelembut es krim. Daging sisa (*tetelan*) berasal dari *mince pork* (daging babi giling) ataupun sapi dapat difraksinasi menjadi isolat-isolat protein seperti *salt soluble protein* (SSP), *insoluble myofibrillar protein* (IMP) dan *connective tissue protein* (CTP) yang masing-masing mempunyai sifat fungsional tertentu yang telah digunakan pada pembuatan sosis. Bulu atau rambut juga dapat diisolasi golongan sisteinnya sebagai perisa (*flavor*) daging untuk makanan

instant. Organ dalam misalnya hati babi sering digunakan sebagai campuran sosis. Demikian juga darah babi dapat digunakan sebagai pasta untuk sosis. Jadi penggunaan bagian tubuh babi yang amat luas itu semuanya berbasis protein, Identifikasi berbasis lemak babi saja saat ini sudah kurang mencukupi untuk identifikasi kontaminasi babi pada berbagai produk, sehingga harus terdapat suatu metode identifikasi kehadirannya berbasis pada protein.

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dalam upaya memberikan terobosan baru dalam uji identifikasi protein khas dari produk-produk berbahan babi, melalui metode yang diharapkan bersifat cepat, mudah, sederhana dan murah. Metode yang diusulkan adalah dengan menggunakan teknik Spektrofotometri Infra Merah, dengan pengolahan data lanjut menggunakan metode turunan kedua atau *second derivative* (2D). Metode 2D ini berusaha mempertajam puncak spektra dan memberikan resolusi yang lebih jelas untuk puncak-puncak yang mungkin bertumpukan. Penelitian ini merupakan rangkaian penelitian perolehan metode uji kehalalan produk yang utuh, valid dan operatif, pada tahap ini sampel yang dipilih adalah kulit babi dan sapi serta produk turunanya, yaitu kikil dan rambak.

Kehadiran pola sepktra infra merah protein khas pada daging babi mentah yang tidak terdapat pada daging sapi yang telah ditemukan pada penelitian Barroroh (2009) dekimian juga pada daging babi dan sapi matang (Barroroh, 2010), memberikan kemungkinan terdapatnya sifat vibrasi molekuler yang khas dari gelatin babi dan sapi. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dikaji karakteristik pola vibrasi molekuler khas protein gelatin babi dan sapi tipe B dari data spektra FTIR dengan bantuan analisa data menggunakan metode *Second Derivative* (2D).

BAB II

STUDI PUSTAKA DAN ROADMAP PENELITIAN

2.1. STUDI PUSTAKA

2.1.1. KAJIAN RISET SEBELUMNYA

Delwiche, et al., (2007) telah berhasil mengukur jumlah protein glicinin dan β -conglycinin yang terdapat pada biji kedelai menggunakan Near Infra Red Spectroscopy (NIR), sampai pada batas screening. Sebelumnya protein ini biasa dipisahkan dengan melalui metode ultrasentrifugasi dan elektroforesis.

Telah dikembangkan pula metode pengukuran kuantitatif asam lemak *trans* baru yang cepat melalui pengukuran ketinggian pita absorpsi asam lemak *trans* pada 966 cm^{-1} menggunakan metode turunan kedua atau *second derivative* (2D). Metode ini berhasil mengidentifikasi dan memisahkan adanya interferensi pita pada $962\text{-}956\text{ cm}^{-1}$ milik lemak jenuh pada pita asam lemak *trans* pada 966 cm^{-1} . Keberhasilan pemisahan pita interferensi ini dapat meningkatkan sensitivitas dan akurasi penentuan asam lemak *trans* pada konsentrasi rendah ($\leq 0.5\%$ dari lemak total) (Mossoba, et al, 2007).

Spektra infra merah lemak babi (*lard*) telah diidentifikasi (Jaswir, 2006). Spektra tidak menunjukkan spektra melebar dengan dua puncak pada $3400\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan khas vibrasi dasar stretching N-H, hal ini karena lemak memang tidak mengandung ikatan N-H. Spektra menunjukkan puncak yang jelas pada sekitar $3009\text{-}3000$, $1119\text{-}1096$, dan $968\text{-}966\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan beberapa varian stretching C-H.

Hasil penelitian Barroroh (2009), tentang identifikasi pola spektra infra merah khas protein daging babi dan sapi mentah menunjukkan bahwa vibrasi molekuler khas protein daging babi mentah muncul pada turunan kedua spektra IR pada bilangan gelombang $1680\text{-}1695\text{ cm}^{-1}$ dan $1075\text{-}1090\text{ cm}^{-1}$.

Pola spektra inframerah khas juga ditemukan pada sampel daging babi dan sapi rebus, yang muncul sebagai pola dua lembah satu puncak pada daging babi rebus dan pola satu lembah pada daging sapi rebus, puncak tersebut terdapat pada rentang bilangan gelombang $975\text{-}985\text{ cm}^{-1}$ (Barroroh, 2010). Pola spektra khas kulit, kikil, dan rambak sapi dan babi juga telah diteliti terdapat pada bilangan gelombang: $890\text{-}940$

cm^{-1} , $940\text{-}990\text{ cm}^{-1}$, $1040\text{-}1090\text{ cm}^{-1}$, 1200 cm^{-1} , dan 2870 cm^{-1} . Spektra khas diduga berada pada daerah vibrasi yang terkait dengan gugus sulfida serta stretching metil, akibat lingkungan yang berbeda (Kusumastuti, dkk, 2011).

2.1.2. KERANGKA TEORI

A. Gelatin

Karakteristik Gelatin

Para saintis sudah berabad-abad melakukan penelitian tentang gelatin. Fenomena dan karakternya yang unik membuatnya sering disukai dalam setiap proses pembuatan makanan. Gelatin hampir tidak mempunyai rasa dan bau, sehingga dengan mudah "menyesuaikan" diri dengan produk yang dihasilkan. Sejak zaman Napoleon di Perancis, gelatin bahkan sudah dijadikan sumber protein. Namun sejarah mencatat baru pada 1890-an gelatin dikomersialkan secara meluas. Secara kimiawi, gelatin merupakan sumber protein berharga yang merupakan produk sampingan hewan dari bagian tak terpakai (by-products) setelah melalui proses hidrolisis parsial (partial hydrolysis) kolagen dari bagian-bagian tertentu tubuh hewan seperti kartilago (cartilages), tulang, tendon, dan kulit. Dari segi penampakan fisik, gelatin merupakan substansi padat (solid), dari tidak berwarna sampai berwarna sedikit kekuningan serta nyaris tanpa rasa dan bau. Dewasa ini kebanyakan gelatin yang berada di pasaran berbentuk tepung granula, meskipun di Eropa gelatin yang berbentuk lembaran juga masih ada.

Kolagen sendiri merupakan protein struktural utama yang ditemukan pada kulit dan tulang hewan. Molekul kolagen terdiri dari tiga rantai polipeptida (rantai- f_L), yang berada di dalam sebuah konformasi triple helix. Triple helix ini distabilkan oleh ikatan-ikatan hidrogen antara dua molekul kolagen yang terjadi ketika umur hewan tersebut meningkat. Lapisan film gelatin yang memiliki kandungan triple helix yang lebih tinggi akan kurang mengembang dalam air dan memiliki kekuatan gel (bloom strength) yang lebih tinggi. Meskipun tidak sepenuhnya benar, gelatin yang memiliki

bloom strength yang tinggi biasanya lebih disukai dan mudah diaplikasikan. Gelatin dari hewan mamalia secara umum jauh lebih kuat dari gelatin ikan. Setiap molekul kolagen dengan 3 rantai- α memiliki ukuran panjang 3000Ao (0.3 mikron) dengan diameter 15Ao. Setiap rantai- α mempunyai sekitar 1.050 asam amino yang berikatan satu sama lain. Kolagen memainkan peranan penting dalam pertumbuhan sifat-sifat fisik daging. Pada ikan misalnya, makin tinggi kandungan kolagen, makin padat struktur daging ikan tersebut. Salah satu sifat unik gelatin adalah gelatin akan meleleh ketika dipanaskan dan akan mudah menjadi padat kembali apabila didinginkan. Bersama-sama dengan air ia akan dengan mudah membentuk gel koloid semi-padat. Jelly yang dibuat dari gelatin mempunyai tekstur yang meleleh di dalam mulut untuk kemudian mengeluarkan semua cita rasa yang dikandungnya. Keunggulan lain gelatin adalah sifatnya sebagai sebuah protein amphoteric dengan titik isoionik antara 5 hingga 9, tergantung pada bahan baku serta cara memprosesnya. Sebuah komponen disebut amphoteric apabila ia bisa bertindak sebagai asam dan basa sekaligus. Jadi, dalam industri sifat demikian akan bermanfaat sekali. Gelatin sangat kaya dengan asam amino glisin (Gly) (hamper sepertiga dari total asam amino), prolin (Pro) dan 4-hidroksiprolin (4Hyd). Struktur gelatin yang umum adalah: -Ala-Gly-Pro-Arg-Gly-Glu-4Hyp-Gly-Pro-. Satu hal yang perlu dicatat adalah kandungan 4Hyd juga berpengaruh pada kekuatan gelatin. Makin tinggi asam amino ini, kekuatan gel juga lebih baik. Meskipun mayoritas diturunkan dari hewan, gelatin sebenarnya tergolong memiliki nilai biologis yang rendah dan sering juga dianggap protein tidak lengkap. Peralunya, ia kekurangan kandungan triptophan (Trp) yang merupakan salah satu asam amino esensial, serta rendah dalam sistein (Cys) dan tirosin (Tyr).

Tipe-tipe Gelatin Secara umum terdapat dua jenis gelatin. Gelatin yang diperoleh setelah melalui proses asam akan mempunyai titik isoelektrik antara pH 6 dan 9. Gelatin seperti ini tergolong Tipe A. Sebaliknya, gelatin yang diproduksi dengan perlakuan basa dikenal sebagai Tipe B. Gelatin Tipe B ini mempunyai titik isoelektrik antara 4.7 hingga 5. Gelatin Tipe A biasanya secara khusus diproduksi dari kulit babi, sedangkan gelatin Tipe B diproduksi dari kulit sapi, kambing dan kerbau atau dari tulang

binatang-binatang ini yang sudah dihilangkan mineralnya (demineralised bones) (Jaswir, 2007).

Pemanfaatan Gelatin

Gelatin sangat penting dalam rangka diversifikasi bahan makanan, karena nilai gizinya yang tinggi yaitu terutama akan tingginya kadar protein khususnya asam amino dan rendahnya kadar lemak. Gelatin kering mengandung kira-kira 84-86 % protein, 8 - 12 % air dan 2 - 4 % mineral. Dari 10 asam amino essensial yang dibutuhkan tubuh, gelatin mengandung 9 asam amino essensial, satu asam amino essensial yang hampir tidak terkandung dalam gelatin yaitu triptofan.

Fungsi-fungsi gelatin dalam berbagai contoh jenis produk yang biasa menggunakannya antara lain :

1. Jenis produk pangan secara umum: berfungsi sebagai zat pengental, penggumpal, membuat produk menjadi elastis, pengemulsi, penstabil, pembentuk busa, pengikat air, pelapis tipis, pemer kaya gizi.
2. Jenis produk daging olahan: berfungsi untuk meningkatkan daya ikat air, konsistensi dan stabilitas produk sosis, kornet, ham, dll.
3. Jenis produk susu olahan: berfungsi untuk memperbaiki tekstur, konsistensi dan stabilitas produk dan menghindari sineresis pada yoghurt, es krim, susu asam, keju cottage, dll.
4. Jenis produk bakery: berfungsi untuk menjaga kelembaban produk, sebagai perekat bahan pengisi pada roti-rotian, dll
5. Jenis produk minuman: berfungsi sebagai penjernih sari buah (juice), bir dan wine.
6. Jenis produk buah-buahan: berfungsi sebagai pelapis (melapisi pori-pori buah sehingga terhindar dari kekeringan dan kerusakan oleh mikroba) untuk menjaga kesegaran dan keawetan buah.
7. Jenis produk permen dan produk sejenisnya: berfungsi untuk mengatur konsistensi produk, mengatur daya gigit dan kekerasan serta tekstur produk, mengatur kelembutan dan daya lengket di mulut. (www.indohalal.com)

Gelatin juga banyak digunakan oleh Industri farmasi, kosmetik, fotografi, jelly, soft candy, cake, pudding, susu yoghurt, film fotografi, pelapis kertas, tinta inkjet, korek api, gabus, pelapis kayu untuk interior, karet plastik, semen, kosmetika adalah contoh-contoh produk industri yang menggunakan gelatin. Penghias kue pada umumnya terbuat dari gum paste juga plastic icing yang mengandung gelatin. Gelatin juga tak hanya terdapat dalam gum paste sebagai penghias kue. Namun juga terdapat dalam kue puding, sirup, maupun permen kenyal. Kebanyakan merupakan produk impor. Bahkan untuk menawarkan kekentalan yang lebih tinggi produsen kecap menggunakan gelatin. Sedangkan di bidang farmasi, gelatin digunakan sebagai cangkang kapsul. Di Indonesia, kapsul yang beredar adalah kapsul jenis hard. Kapsul ini terbuat dari gelatin, pewarna, pengawet serta pelentur. Menurut informasi yang berasal dari Badan POM gelatin yang masuk ke Indonesia bahannya berasal dari organ sapi. (infohalal Republika)

Keadaan kandungan gelatin dalam industri di Indonesia

Untuk keperluan industri dalam negeri Indonesia setiap tahun mengimpor gelatin dalam jumlah yang cukup banyak. Sebagai contoh dapat dikemukakan bahwa pada tahun 2000, Indonesia mengimport gelatin 3.092 ton dari Amerika Serikat, Perancis, Jerman, Brasil, Korea, Cina dan Jepang. (www.iptekda.lipi.go.id) Menurut Nur Wahid, anggota LPPOM MUI, seratus persen gelatin di Indonesia merupakan produk impor. Di luar negeri, sebanyak 70 persen gelatin terbuat dari kulit babi. (www.republika.co.id) Karena itu, sebagai seorang muslim, kita harus waspada terhadap produk-produk yang mengandung gelatin seperti permen, kue tart, kosmetika, bahkan cangkang kapsul.

Hingga saat ini kebutuhan gelatin di Indonesia 100 persen masih diimpor dari Eropa, China dan beberapa negara lain. Jumlah impornya sampai 2.000-3.000 ton per tahun. Data BPS 2007 menyebutkan, impor gelatin mencapai 2.715.782 kg dengan nilai sebesar 9.535.128 dolar AS. Jika melihat kebutuhan gelatin di dalam negeri yang cukup banyak, seharusnya gelatin sudah bisa diproduksi sendiri di dalam negeri, apa

lagi pembuatan gelatin bukanlah sesuatu yang terlalu sulit. Pembuatannya tidak memerlukan teknologi sangat canggih.

Data Deptan 2006, jumlah sapi potong nasional mencapai 10,8 juta ekor. Bila 20 persen dari potensi sapi potong nasional itu diolah, sementara rata-rata berat kulit sapi 25 kg, maka potensi kulit sapi mencapai 54 juta kg atau setara dengan 3.250-4.300 ton gelatin. Itu berarti seluruh kebutuhan nasional akan gelatin sudah bisa terpenuhi dari sapi potong kita sendiri dan impor gelatin seharusnya tidak diperlukan lagi. Selain itu, kebanyakan (44,5 persen) dari gelatin dunia (136.000 ton) berasal dari kulit babi, baru kemudian 27,6 persen (84.000 ton) dari kulit sapi dan dari tulang 26,6 persen (81.600 ton) dan sisanya berasal dari selain itu (1,3 persen atau 4.000 ton). Karena itu, gelatin produk dalam negeri lebih bisa dijamin kehalalannya, khususnya karena gelatin yang berasal dari kulit babi dan yang berasal dari kulit sapi di pasaran sudah tak bisa dibedakan sama sekali, kecuali diuji di laboratorium.

Gelatin yang dijual di pasar dalam bentuk butiran dan lembaran, juga tak memiliki identitas komposisi dan industri yang menggunakannya tak mengetahui asal-usul dan bahan gelatin tersebut. Produksi gelatin juga memberi nilai tambah bagi industri penyamakan kulit di mana harga gelatin yang dijual di pasaran mencapai antara 70-90 ribu per kg atau Rp14.000 per ons. Sementara jika sisa kulit sapi hasil pemisahan kulit itu dimanfaatkan sebagai bahan makanan di pasar tradisional berupa kikil hanya akan dihargai di pabrik Rp4.000 atau sebagai bahan kerupuk kulit dengan harga Rp10.000 per kg, harga yang cukup murah, katanya. Apa lagi dari sisi konsumen, jenis makanan seperti kikil dan kerupuk kulit (kerecek) meski mengandung protein, kurang bergizi, karena kandungan asam amino esensialnya sangat rendah dan bahkan kurang baik bagi penderita asam urat dan sejenisnya (Berita daerah.com, 2009).

Pembuatan Gelatin

Dari cara pembuatannya, ada dua jenis gelatin yaitu gelatin tipe A dan tipe B. Gelatin tipe A adalah gelatin yang umumnya dibuat dari kulit hewan muda (terutama babi), sehingga proses pelunakannya dapat dilakukan dengan cepat yaitu dengan sistim perendaman dalam larutan asam (A=acid). Gelatin tipe B adalah gelatin yang diolah dari bahan baku yang keras seperti dari hewan tua dan tulang, sehingga proses perendamannya perlu lama dan larutan yang digunakan yaitu larutan basa (B=base). Oleh karena itu, keliru jika orang menganggap B adalah singkatan dari *Beef* (sapi).

C. Identifikasi Protein Khas Babi

Metoda kromatografi cairan kinerja tinggi (KCKT) telah digunakan untuk analisis protein daging babi mentah yang tercampur dengan daging sapi menggunakan fasa diam C₄ (Hi-Pore RP-304, Biorad) dengan fasa gerak A 0,1 % asam trifloroasetat dan pelarut B asetonitril/aquabidest/asam trifloroasetat (95:5:0,1) dan deteksi pada 280 nm. Dan analisis kualitatif, komponen khas yang hanya dimiliki oleh babi mempunyai retensi relatif 1,74 – 1,77. Untuk perhitungan kuantitatif dibuat kurva standar, hubungan antara luas komponen khas babi dan jumlah daging babi yang ditambahkan ke dalam daging sapi. Dari kurva diperoleh garis lurus dengan koefisien korelasi 0,9823 untuk sampel daging babi dan 0,9852 untuk sampel daging sapi. Metoda KCKT yang dikembangkan dapat menganalisis babi yang tercampur sapi hingga 1 %, akan tetapi perhitungan kuantitatif lebih akurat pada jumlah babi diatas 5 % dengan koefisien korelasi di bawah 3 %. Karena metoda KCKT hanya dapat menganalisis protein dari daging yang segar, maka protein dari daging yang sudah matang dapat dianalisis melalui uji DNA yang sudah diamplifikasi oleh PCR dengan teknik elektroforesis. Hasil amplifikasi DNA babi, serta campuran babi dan sapi menunjukkan adanya satu pita yang mempunyai ukuran sekitar 2 kb, sedangkan DNA sapi yang sudah diamplifikasi tidak menunjukkan pita yang jelas pada agarose gel (Boes, E., 2000).

Telah pula dilakukan penelitian analisis adanya protein daging babi menggunakan elektroforesis SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfat-Polyacrylamide Gel Electrophoresis) dengan sistem buffer diskontinyu. Dengan menggunakan teknik

pemisahan elektroforesis SDS-PAGE maka adanya perbedaan di dalam komposisi protein akan menghasilkan pemisahan dalam bentuk pita protein dengan berat molekul yang berbeda, dengan demikian bisa dicari pita protein pembeda tersebut. Dari hasil penelitian untuk identifikasi protein daging sapi dan babi daging mentah ditemukan beberapa pita protein yang menjadi pita protein pembeda. Pada daging babi mentah ditemukan pita protein pembeda yang tidak ditemukan pada daging sapi pada Rf 0,0885; 0,1435; 0,296 dan 0,6825 dengan berat molekul berturut-turut 54,71 kD; 46,64 kD; 29,96 kD dan 9,76 kD. Sedangkan pada sapi ditemukan pita protein pembeda yang tidak ditemukan pada babi pada Rf 0,0965 dengan berat molekul 53,46 kD dan Rf 0,827 dengan berat molekul 6,42 kD. Untuk campuran daging sapi dan daging babi dengan perbandingan 50:50 % belum nampak adanya perbedaan pita protein yang muncul, hal ini terjadi karena konsentrasinya terlalu kecil sehingga intensitas pita protein yang muncul kecil sehingga tidak terlihat. Pada daging yang sudah direbus tidak bisa diidentifikasi dengan menggunakan elektroforesis SDS-PAGE karena proteinnya sudah terdenaturasi (Purwaningsih, A., 2005).

Upaya Identifikasi Daging Babi pada Bakso melalui Karakterisasi Fraksi Protein dengan Menggunakan SDS PAGE juga dilakukan oleh kelompok peneliti pemenang LKTI PIMNAS tahun 2005 yang dipimpin oleh Edy Susanto. Sampel yang diteliti adalah: daging babi dan daging sapi segar; daging babi dan sapi masing-masing direbus pada suhu 90 derajat Celcius selama 15 menit; bakso dengan kandungan: 100 persen daging sapi, 25 persen daging babi + 75 persen daging sapi, 50 persen daging babi + 50 persen daging sapi, dan terakhir adalah 100 persen daging babi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada daging babi segar terdapat protein tak diketahui dengan berat molekul 112,13 KDa yang tidak terdapat pada sampel daging sapi segar. Pemanasan pada suhu 90 derajat Celcius selama 15 menit menyebabkan penurunan pada ketebalan pita-pita protein pada masing-masing sampel. Daging babi rebus mempunyai ciri spesifik yaitu terdapatnya protein desmin yang tidak terdeteksi pada daging sapi rebus. Masih menurut Edi Susanto dkk, perbedaan berikutnya adalah tidak terdapatnya protein tropomiosin 1 pada daging babi rebus, tetapi protein tersebut terdeteksi pada daging sapi. Selanjutnya, menurut pendapat Edy Susanto dkk,

perbedaan spesifik pada bakso daging sapi adalah adanya protein troponin T yang terdapat dalam jumlah banyak, sedangkan pada tingkat pencampuran daging babi pada bakso sapi 25 persen, 50 persen, dan 100 persen protein tersebut terdeteksi sedikit. Dengan demikian adanya pencampuran daging babi pada bakso dapat dilihat dari tingkat ketebalan pita protein troponin T yang semakin menurun dengan kenaikan jumlah daging babi yang ditambahkan (Susanto, E. dkk, 2005).

D. Spektroskopi Infra Merah

Spektrofotometri infra merah sangat penting dalam kimia modern, terutama dalam kimia organik. Spektrofotometri infra merah merupakan alat untuk mendeteksi gugus fungsional, mengidentifikasi senyawa, menganalisis campuran (Underwood, 2002). Spektroskopi infra merah atau infrared spectroscopy (IR) mempunyai daerah radiasi pada bilangan gelombang $12800-10\text{ cm}^{-1}$, atau pada panjang gelombang $0,78-1000\text{ }\mu\text{m}$. Daerah radiasi IR terbagi dalam tiga bagian yaitu daerah IR dekat ($12800-4000\text{ cm}^{-1}$; $0,78-2,5\text{ }\mu\text{m}$), daerah IR tengah ($4000-200\text{ cm}^{-1}$; $2,5-50\text{ }\mu\text{m}$), dan daerah IR jauh ($200-10\text{ cm}^{-1}$; $50-1000\text{ }\mu\text{m}$). Daerah IR yang banyak digunakan untuk berbagai keperluan adalah daerah IR tengah $4000-690\text{ cm}^{-1}$ (Kopkar, 1990).

Delwiche, et al., (2007) telah berhasil mengukur jumlah protein glicinin dan β -conglycinin yang terdapat pada biji kedelai menggunakan Near Infra Red Spectroscopy (NIR), sampai pada batas screening. Sebelumnya protein ini biasa dipisahkan dengan melalui metode ultrasentrifugasi dan elektroforesis.

Telah dikembangkan pula metode pengukuran kuantitatif asam lemak *trans* baru yang cepat melalui pengukuran ketinggian pita absorpsi asam lemak *trans* pada 966 cm^{-1} menggunakan metode turunan kedua atau *second derivative* (2D). Metode ini berhasil mengidentifikasi dan memisahkan adanya interferensi pita pada $962-956\text{ cm}^{-1}$ milik lemak jenuh pada pita asam lemak *trans* pada 966 cm^{-1} . Keberhasilan pemisahan pita interferensi ini dapat meningkatkan sensitivitas dan akurasi penentuan asam lemak *trans* pada konsentrasi rendah ($\leq 0.5\%$ dari lemak total) (Mossoba, et al, 2007).

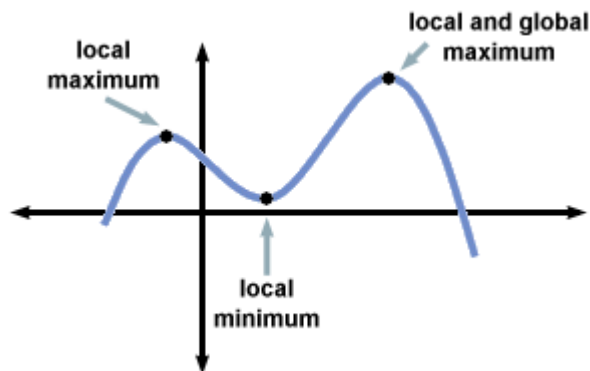
E. Metode Second Derivative (2D)

Derivative dapat digunakan untuk mengumpulkan informasi tentang grafik fungsi. Karena derivative menunjukkan tingkat perubahan dari suatu fungsi, untuk menentukan dimana suatu fungsi naik, kita hanya memeriksa dimana derivativenya positif. Dengan cara yang sama, untuk menemukan dimana suatu fungsi turun, kita memeriksa dimana derivativenya negatif. Titik dimana derivative sama dengan 0 disebut titik-kritis. Pada titik-titik ini, fungsi itu adalah konstan dan grafiknya horizontal.

Pengujian Derivative Pertama

Minimum lokal (atau maksimum lokal) dari suatu fungsi f adalah suatu titik $(x_0, f(x_0))$ pada grafik f sedemikian hingga $f(x_0) \leq f(x)$ (atau $f(x_0) \geq f(x)$) untuk semua x dalam suatu interval yang memuat x_0 . Titik seperti itu disebut sebagai suatu minimum global (atau maksimum global) dari suatu fungsi f jika ketidaksamaan yang sesuai terpenuhi untuk semua titik-titik di dalam daerah domain. Secara khusus, setiap maksimum global (minimum) adalah juga suatu maksimum lokal (minimum).

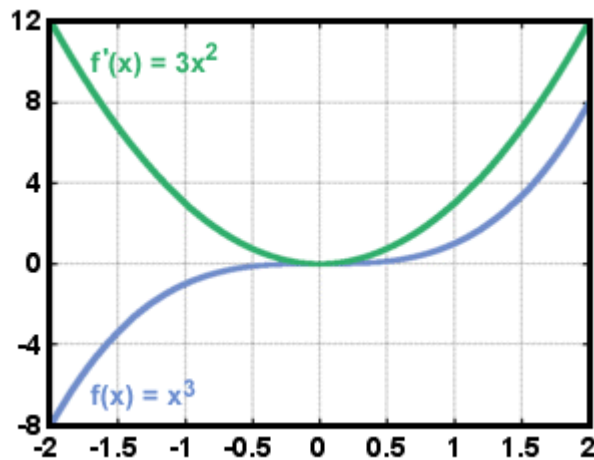
Secara intuitif jelas bahwa garis singgung grafik fungsi pada suatu minimum lokal atau maksimum lokal harus horisontal, sehingga derivativenya di titik itu adalah 0, dan titik tersebut adalah titik-kritis. Oleh karena itu, untuk menemukan minima (maxima) lokal suatu fungsi, kita harus menemukan semua titik-kritisnya dan memeriksa masing-masing untuk melihat apakah itu merupakan suatu minimum lokal, suatu maksimum lokal, atau bukan. Jika fungsi itu mempunyai suatu minimum global atau maksimum global, maka akan jadi nilai terkecil (atau terbesar) dari minima yang lokal (atau maksima), atau nilai dari fungsi di satu titik akhir dari daerah domain (bila titik-titik seperti itu ada).



Gambar : Contoh Titik-titik Ekstrim Global dan Lokal

Secara jelas, perilaku dekat suatu maksimum lokal adalah fungsi menaik, mendatar, dan mulai menurun. Oleh karena itu, suatu titik-kritis adalah suatu maksimum lokal jika derivativenya positif hanya untuk titik-titik sebelah kirinya, dan negatif hanya untuk sebelah kanannya. Dengan cara yang sama, suatu titik-kritis adalah suatu minimum lokal jika derivativenya negatif hanya untuk yang yang di sebelah kirinyan dan positif di sebelah kanannya. Sifat-sifat ini secara bersamaan disebut sebagai pengujian derivative pertama untuk maksima dan minima.

Mungkin ada titik-kritis dari suatu fungsi yang bukan maksima lokal atau minima lokal, dimana derivativenya mencapai nilai nol tanpa melintas dari positif ke negatif. Sebagai contoh, fungsi $f(x) = x^3$ mempunyai suatu titik-kritis pada 0. Derivative $f'(x) = 3x^2$ adalah nol di titik ini, tetapi di sebarang titik lainnya f' adalah positif. Fungsi ini dan derivativenya bersifat tergambar pada grafik di bawah ini.



Gambar: Grafik $f(x) = x^3$ dan $f'(x) = 3x^2$

Pengujian Derivative Kedua

Begitu kita sudah menemukan titik-kritis, salah satu cara untuk menentukan apakah mereka bersifat minima atau maksima lokal adalah dengan menerapkan pengujian derivative pertama. Cara lainnya yaitu dengan menggunakan derivative kedua dari f . Misalkan x_0 adalah suatu titik-kritis dari fungsi $f(x)$, dimana $f'(x_0) = 0$. Kita mempunyai tiga kasus berikut:

1. $f''(x_0) > 0$ menunjukkan x_0 adalah suatu minimum lokal
2. $f''(x_0) < 0$ menunjukkan x_0 adalah suatu maksimum lokal
3. $f''(x_0) = 0$ belum bisa disimpulkan

Dua pilihan yang pertama itu berasal dari pengamatan bahwa $f''(x_0)$ adalah tingkat perubahan dari $f'(x)$ pada x_0 , yang akan bernilai positif jika derivativenya melewati nol dari sisi negatif ke positif, dan akan bernilai negatif jika derivativenya melewati nol dari sisi positif ke negatif. Hal inilah yang disebut pengujian derivative kedua untuk maksima dan minima. Kasus yang ketiga, yang belum bisa disimpulkan dipertimbangkan di bawah ini.

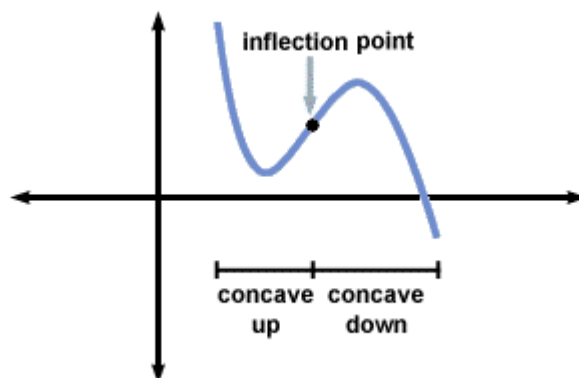
Pengujian derivative pertama dan kedua secara esensial memberlakukan logika yang sama, yaitu menjelaskan apa yang terjadi pada derivative $f'(x)$ di dekat suatu titik-kritis x_0 . Pengujian derivative pertama mengatakan bahwa maksima dan minima itu berpasangan dengan f' melintasi nol dari satu arah ke arah yang lain, yang ditunjukkan oleh tanda dari f' dekat x_0 . Pengujian derivative kedua hanyalah pengamatan dengan informasi yang sama ditunjukkan pada kemiringan dari garis singgung $f'(x)$ di titik x_0 .

Titik Kecekungan dan Titik Modulasi (Balik)

Suatu fungsi $f(x)$ disebut cekung ke atas pada titik x_0 jika $f''(x_0) > 0$, dan cekung ke bawah jika $f''(x_0) < 0$. Dengan grafik, hal ini menunjukkan cara grafik dari f "memutar" dekat x_0 . Suatu fungsi yang cekung ke atas pada titik x_0 terjadi di atas garis singgungnya pada suatu interval yang kecil di sekitar x_0 (menyentuh tetapi bukan melintas pada x_0). Dengan cara yang sama, suatu fungsi yang cekung ke bawah pada x_0 terjadi di bawah garis singgungnya dekat x_0 .

Kasus tersisa adalah suatu titik x_0 di mana $f'(x_0) = 0$, yang disebut sebagai satu titik modulasi (balik). Pada titik seperti itu, fungsi f semakin dekat kepada garis singgungnya dibandingkan di tempat lain, karena derivative keduanya menunjukkan tingkat di mana putaran fungsi menjauh dari garis singgung. Cara lain, suatu fungsi biasanya mempunyai nilai dan derivative yang sama karena garis singgungnya pada titik tersebut hampir tangensi; pada satu titik modulasi, derivative kedua dari fungsi dan garis singgungnya juga sama. Tentu saja, derivative kedua dari fungsi garis singgungnya adalah selalu nol, jadi pernyataan ini hanyalah $f''(x_0) = 0$.

Titik-titik modulasi adalah titik-kritis dari derivative pertama $f'(x)$. Pada satu titik modulasi, suatu fungsi akan berubah dari cekung ke atas menjadi cekung ke bawah (atau jalan keluar yang lain), atau sebentar lagi "meluruskan" selagi mempunyai kecekungan yang sama pada sisi yang lain. Tiga kasus ini berkesesuaian, secara berturut-turut, pada titik modulasi x_0 menjadi maksimum lokal atau minimum lokal dari $f(x)$, atau tidak.



Gambar: Contoh Titik Kecekungan dan Titik Modulasi (Balik)

2.2.ROADMAP PENELITIAN

Tahun 1	Tahun 2	Tahun 3-6	Tahun 7	Tahun 8	Tahun 9
Uji kemampuan Metode 2D untuk mencari pola khas spektra IR pada material sederhana (daging mentah)	Uji kevalidan Metode 2D dalam menentukan pola khas spektra IR dengan pendekatan interpolasi)	Data Mining (pola khas spektra IR dari sampel-sampel yang lebih kompleks)	Perumusan hubungan kuantitatif antara sifat kimia dan pola khas spektra IR	Pembuatan Software identifikasi kehadiran kontaminan protein babi pada produk pangan	Patent Metode, Software dan Data

Saat ini penelitian sedang pada tahap tahun ke-3 yaitu Data Mining, Pengkoleksian pola khas spektra Infra merah dari berbagai produk babi dan sapi yang lebih kompleks.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Malang, selama enam bulan, mulai bulan Juni hingga November 2011.

3.2. Rancangan Penelitian

Dalam penelitian ini yang menjadi objek penelitian adalah gelatin tipe B yang dibuat dari tulang babi dan sapi. Sampel siap analisa dibuat sendiri di laboratorium. Pengambilan sampel dibuat ulangan masing-masing 10 kali, yang masing-masing bahan baku tulang diambil dari tempat dan waktu yang berbeda. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap. Analisa data spektra FTIR yang diperoleh dilakukan lebih lanjut dengan membuat kurva turunan kedua dari spektra, disebut metode *Second Dervative* (2D), metode ini akan mempertajam puncak spektra dan memperbesar resolusi pemisahan spektra.

3.3. Alat dan Bahan

Bahan dari penelitian ini adalah tulang babi dan sapi yang diperoleh di pasaran. Bahan Pembuat pellet padatan untuk instrumentasi FTIR adalah KBr. Sementara peralatan yang digunakan adalah Spektrometer FTIR Simadzhu. Spektra FTIR dikumpulkan pada rentang bilangan gelombang $4000-700\text{ cm}^{-1}$, pada resolusi 4 cm^{-1} , scan dilakukan sebanyak 20 kali yang kemudian dijumlahkan dan dirata-ratakan. Sebagai material background referensi digunakan udara ambient.

3.4. Metode Penelitian

Sampel tulang babi dan sapi diproses menjadi gelatin menggunakan metode tradisional yang biasa digunakan di masyarakat, teknik lengkap diambil dari

www.iptek.net.id. Gelatin kering yang telah diperoleh dihaluskan dan langsung dapat dibuat pellet untuk identifikasi spektra infra merah.

Lempeng (pellet) KBr dibuat dengan menggerus cuplikan (0,1-2% berat) dengan kalium bromida (KBr) dalam mortar dari batu agate untuk mengurangi kontaminasi yang menyerap radiasi IR dan kemudian dimasukkan ke dalam tempat khusus kemudian di vakum untuk melepaskan air. Campuran dipres beberapa saat (10 menit) pada tekanan 80 Torr (8 hingga 20 ton per satuan luas).

Pengumpulan data spektra dan pembuatan kurva turunan kedua menggunakan bantuan perangkat lunak dari Resolution Pro Varian.

3.5. Analisis Data

Keseluruhan sampel diuji keseragaman terlebih dahulu sebelum dilakukan analisis data menggunakan metode *second derivative*. Untuk mendukung pengambilan keputusan tentang ada tidaknya spektra khas protein babi menggunakan metode deskriptif. Identifikasi jenis vibrasi khas protein babi dilakukan berdasarkan kepakaran sesuai dengan teori.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

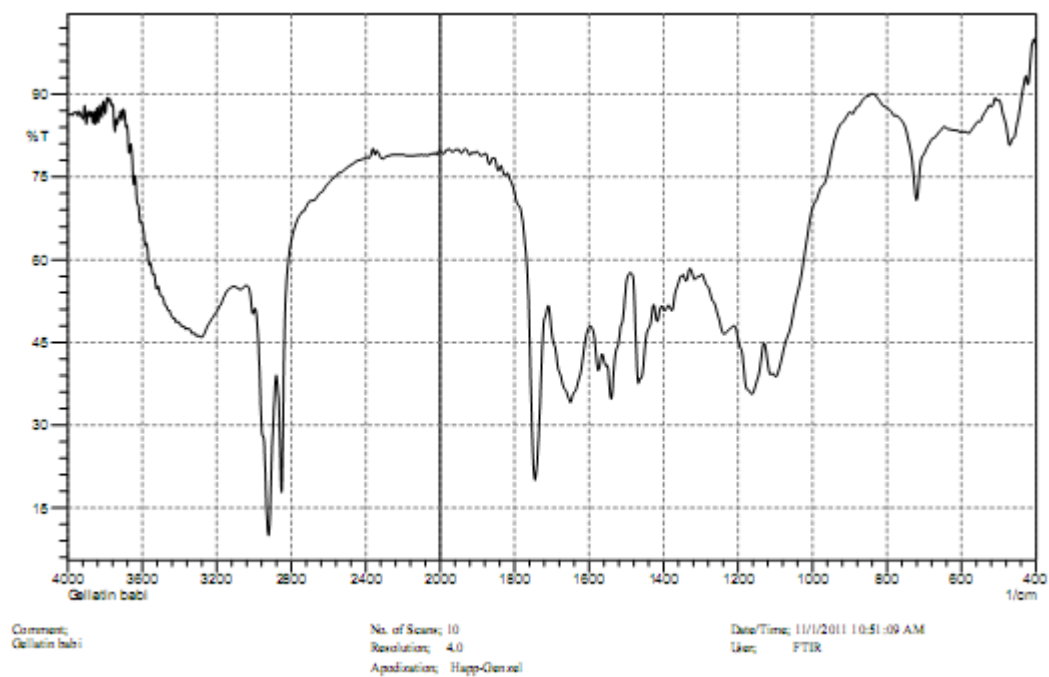
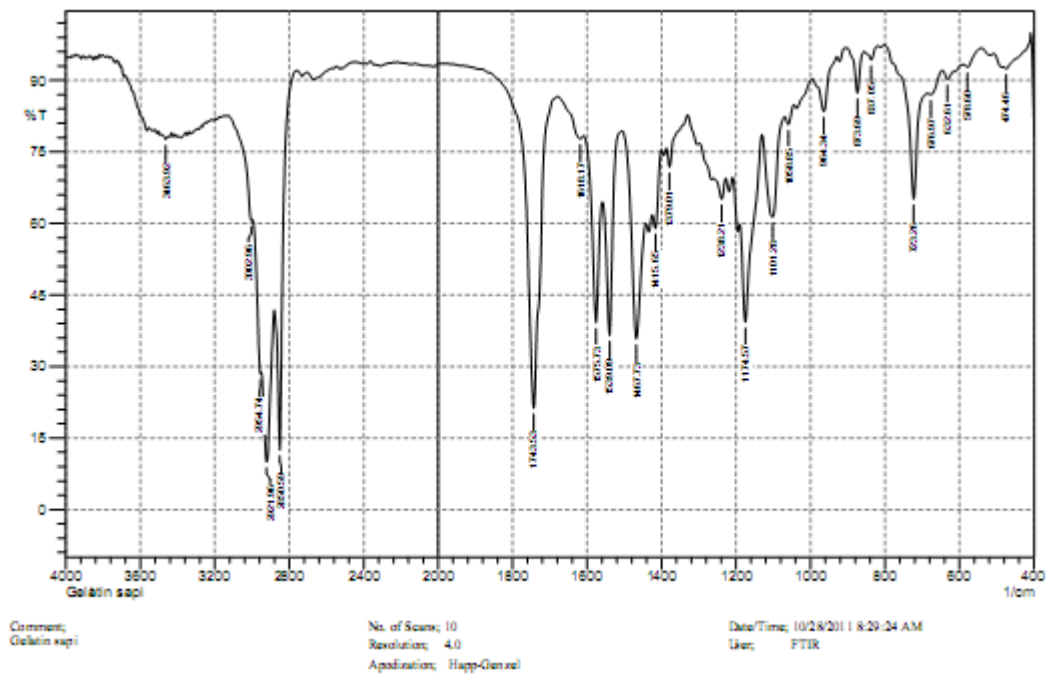
Pada tahap ini sampel yang telah selesai dianalisa adalah sebuah sampel gelatin sapi dan sebuah sampel gelatin babi. Hal ini terkait dengan proses pembuatan gelatin yang melibatkan proses perendaman dalam air kapur selama 4-5 minggu. Sisa sampel ulangan diperkirakan akan dapat diperoleh pada akhir bulan november.

4.1. Spektra FTIR Gelatin Sapi dan Babi

Spektra FTIR diperoleh dari alat FTIR merk Simadzu, dengan spesifikasi bilangan gelombang antara 400-4000cm⁻¹ resolusi 4cm⁻¹ dan scan sebanyak 20, dengan reference berupa udara ambient. Spektra FTIR gelatin sapi dan babi dapat dilihat sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 4.1.

Secara umum kedua spektra gelatin memiliki pola yang hampir sama. Pada daerah bilangan gelombang antara 2000-4000 cm⁻¹ keduanya memiliki pola puncak yang identik. Pada sekitar bilangan gelombang 3200-3500cm⁻¹ terdapat puncak melebar. Rentang bilangan gelombang ini biasanya terkait dengan vibrasi stretching -OH yang khas melebar, serta adanya puncak doble agak meruncing pada bilangan gelombang 3300cm⁻¹ terkait dengan vibrasi stretching -NH. Kedua puncak ini dapat diduga berasal dari adanya gugus -OH dan -NH dari asam amino-asam amino protein penyusun gelatin. Pola semacam ini juga dapat ditemukan pada spektra FTIR daging sapi dan babi dari penelitian Barroroh (2009) sebagaimana tampak pada Gambar.4.2. Hal ini dikarenakan baik gelatin maupun daging sama-sama mengandung asam amino penyusun protein yang memiliki gugus-gugus -OH dan -NH.

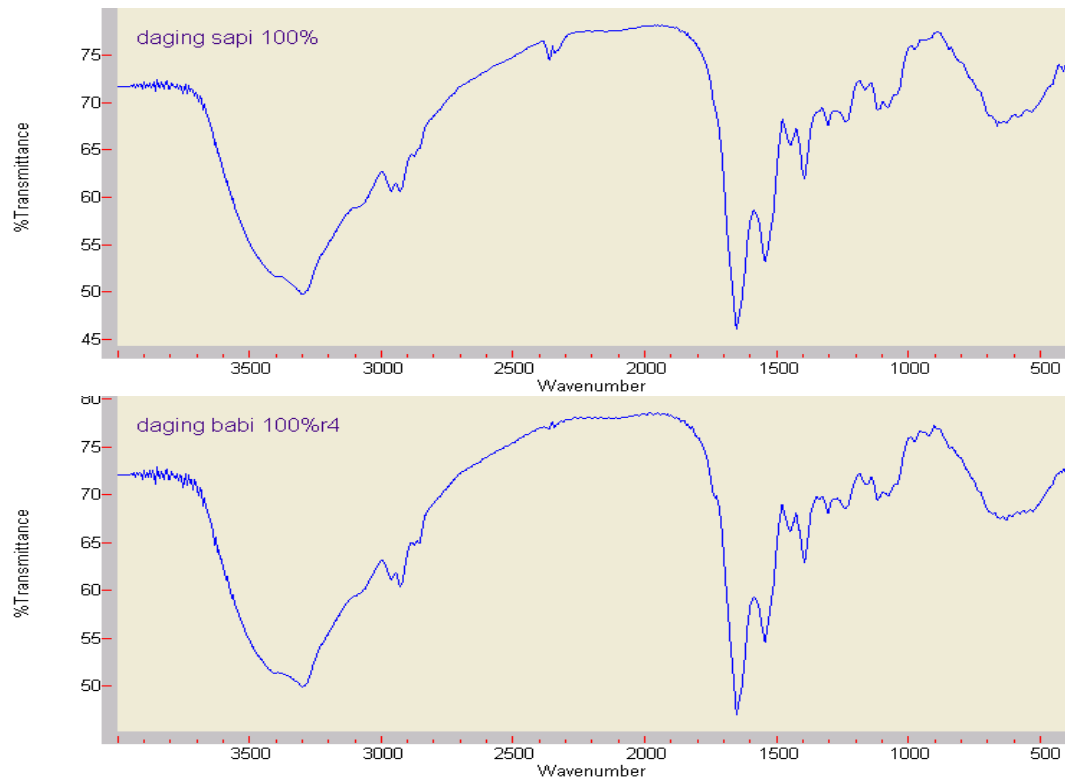
Puncak tajam pada sekitar 2900-3000 merupakan spektra yang berasal vibrasi stretching C-H. Puncak ini merupakan puncak yang umum hadir pada senyawa hidrokarbon maupun biomolekul.



Gambar 4.1. Perbandingan Spektra FTIR gelatin sapi dan babi

Rentang bilangan gelombang dibawah 1700 cm^{-1} baik gelatin sapi maupun gelatin babi secara umum memiliki pola yang hampir sama tetapi tidak sangat identik. Daerah bilangan gelombang antara $1000\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$ biasanya berasal dari adanya vibrasi bending maupun overtone gugus-gugus fungsional pokok. Pada daerah ini dimungkinkan untuk ditemukan spektra khas dari tiap-tiap sampel yang berbeda. Demikian juga rentang bilangan gelombang $400\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, rentang bilangan gelombang ini bersifat sangat khas untuk setiap senyawa yang berbeda, karena itu daerah ini disebut sebagai daerah finger print atau daerah sidik jari. Kekhasan spektra vibrasi pada daerah finger print ini disebabkan karena puncak-puncak yang terbentuk berasal dari vibrasi breathing kelompok gugus fungsional maupun molekul secara keseluruhan. Hal ini mengakibatkan adanya gugus yang sama tetapi dengan lingkungan yang berbeda dan susunan atom yang berbeda dalam molekul yang berbeda akan memberikan frekuensi vibrasi yang berbeda. Sehingga analisa detail selanjutnya terkait spektra khas gelatin sapi dan babi diproyeksikan akan diperoleh dengan menganalisa daerah bilangan gelombang dibawah 1700 cm^{-1} dengan bantuan metode Second Derivative.

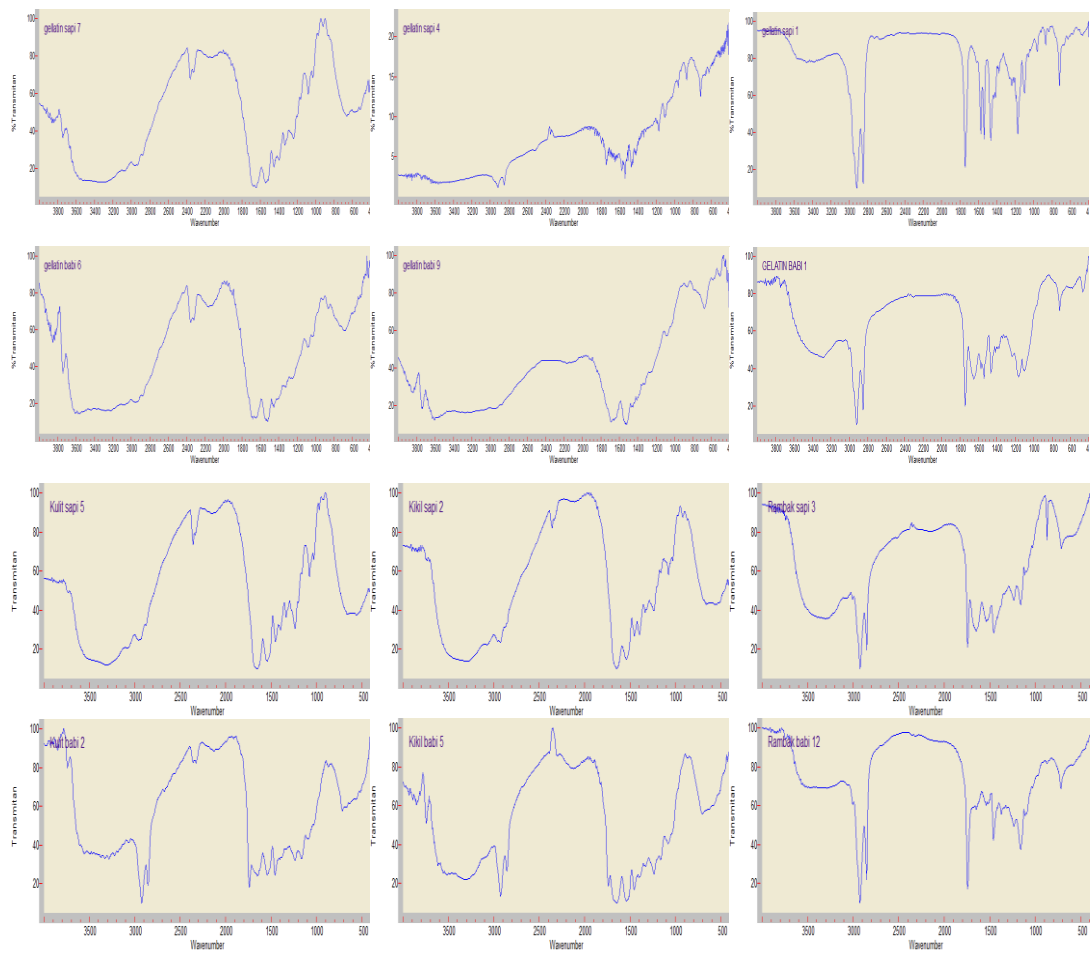
Perbandingan daerah bilangan gelombang dibawah 1700 cm^{-1} antara sampel gelatin sapi dan babi dengan sampel daging sapi dan babi (Barroroh,2009) secara umum menunjukkan adanya pola yang berbeda antara sampel gelatin dan sampel daging. Hal ini terkait dengan perbedaan susunan asam amino-asam amino yang terdapat pada gelatin dan daging. Gelatin adalah turunan kolagen yang merupakan protein struktural utama yang ditemukan pada kulit dan tulang hewan. Molekul kolagen terdiri dari tiga rantai polipeptida, yang berada di dalam sebuah konformasi triple helix, hal ini menunjukkan bahwa gelatin hanya memiliki sampai struktur sekunder dari protein. Susunan asam amino gelatin ini sangat berbeda dengan cara penyusunan asam amino pada daging yang lebih banyak merupakan protein globular. Protein globular merupakan lipatan-lipatan dari beberapa struktur helix dan beta sheet, yang masing-masing lipatan membentuk subglobula, beberapa subglobula akan berikteraksi dan membentuk sebuah globula. Struktur yang dimiliki oleh protein globula sampai mencapai struktur quarterner dari protein.



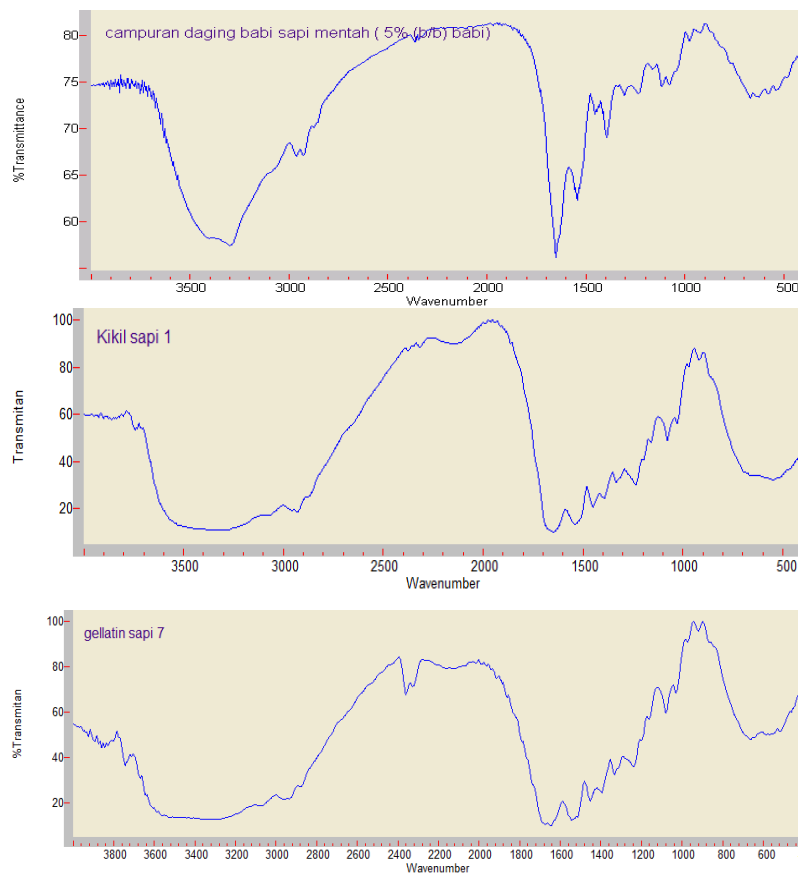
Gambar 4.2. Spektra FTIR daging sapi dan babi mentah (Barroroh,2009)

4.2. Perbandingan Spektra FTIR Gelatin, Kulit, Kikil dan Rambak Sapi dan Babi

Secara umum dapat dilihat dari data spektra FTIR transmitan, baik gelatin, kulit, kikil maupun rambak sapi dan babi memiliki pola spektra yang mirip. Sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 4.1. Demikian juga jika dibandingkan dengan penelitian terdahulu tentang spektra FTIR daging sapi dan babi, spektra FTIR gelatin, kulit, kikil dan rambak juga secara umum memiliki posisi dan bentuk puncak yang mirip dengan spektra FTIR daging sapi dan babi, sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2. Spektra FTIR gelatin, kulit, kikil dan rambak babi dan sapi (Kusumastuti, dkk, 2011).

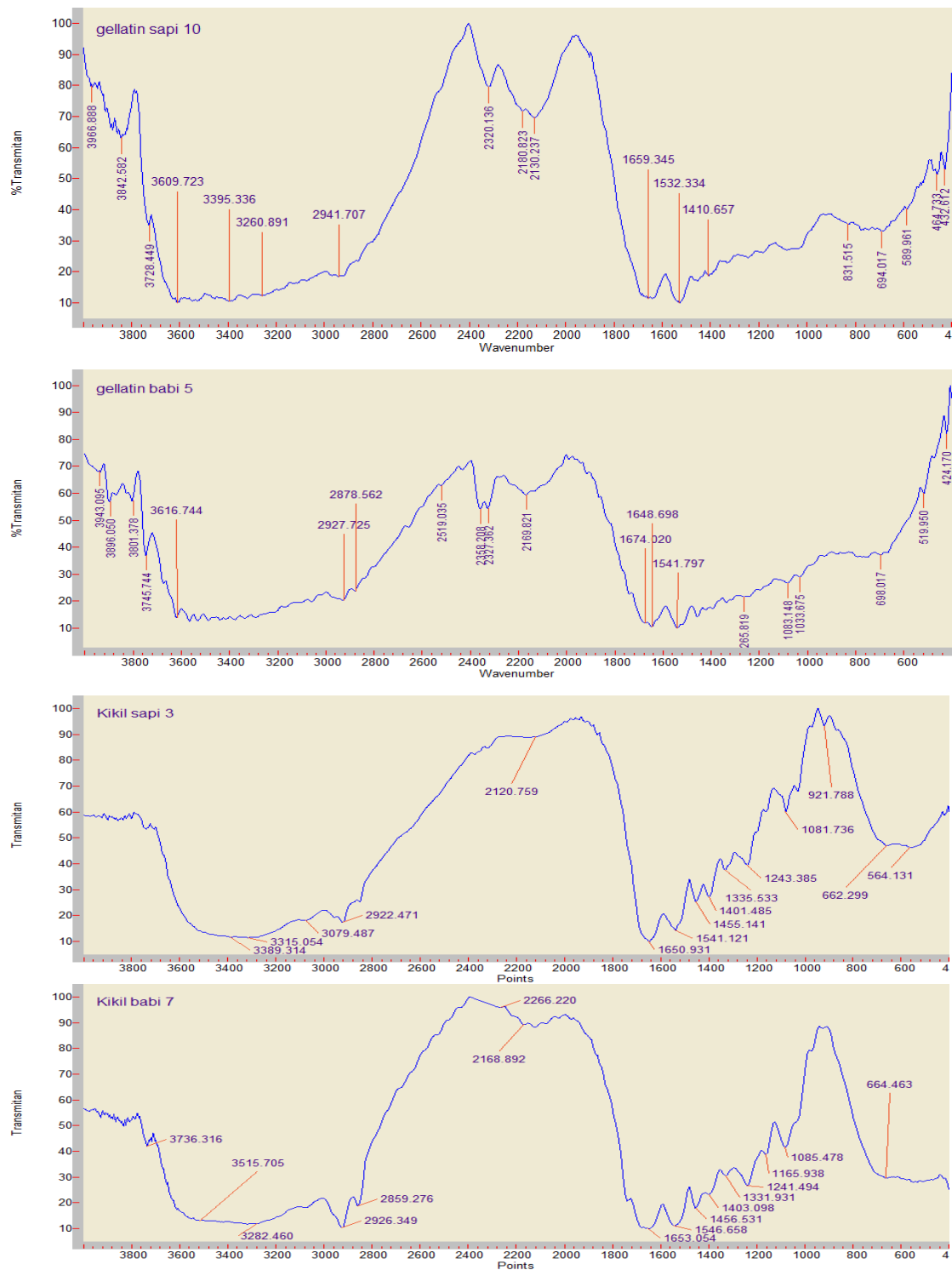


Gambar 4.3. Perbandingan pola umum spektra daging sapi dan babi (Barroroh, 2009) serta gelatin dan kikil sapi (Kusumastuti, dkk, 2011).

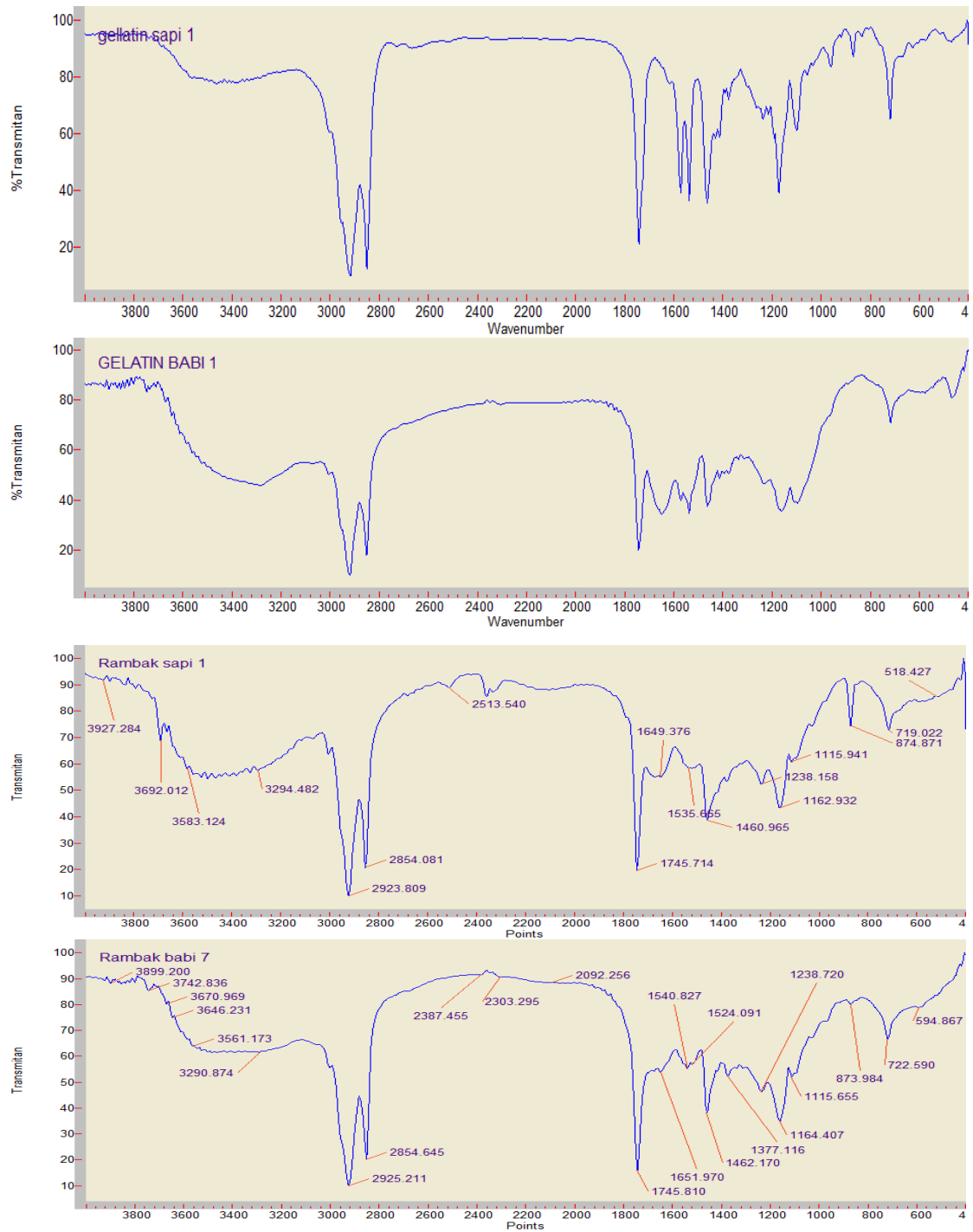
Posisi bilangan gelombang puncak-puncak spektra FTIR daging sapi dan babi, gelatin dan kikil, kulit serta rambak secara umum mengindikasikan bahwa kesemua bahan tersebut memiliki bahan dasar utama yang hampir sama yaitu protein selain adanya kemungkinan bahan minor yang lain. Hal ini teridentifikasi dari munculnya puncak melebar pada sekitar $3500 - 3600 \text{ cm}^{-1}$ dan $3000 - 3400 \text{ cm}^{-1}$ yang merupakan puncak yang khas dari vibrasi gugus fungsi dari ikatan -OH dan -NH intramolekul. Pelebaran puncak terjadi akibat terbentuknya ikatan hidrogen baik dari gugus OH protein maupun H_2O dan NH dari protein. Sebagaimana diketahui protein adalah makromolekul yang dapat tersusun dari ribuan asam amino, masing-masing asam amino setidaknya memiliki satu gugus terminal asam (COOH) dan terminal amino

(NH₃). Terdapat juga puncak kuat pada sekitar 2900 cm⁻¹ dan 2800 cm⁻¹ yang merupakan moda vibrasi stretching CH₂ simetri dan asimetri. Konfirmasi hadirnya gugus asam (COOH) ditunjukkan dari puncak kuat pada sekitar 1750 cm⁻¹ yang merupakan vibrasi stretching C=O. Daerah puncak dibawah 1400 cm⁻¹ merupakan daerah finger print yang khas untuk setiap sistem molekuler.

Analisa puncak-puncak spektra FTIR transmitan gelatin sapi dan babi secara lebih detil dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Perbandingan puncak-puncak spektra FTIR gelatin sapi dan babi dan kikil sapi dan babi (Kusumastuti, dkk, 2011).



Gambar 4.5. Perbandingan puncak-puncak spektra FTIR satu sampel gelatin yang berbeda dengan sampel gelatin yang lain terhadap rambak sapi dan babi (kusumastuti, dkk, 2011).

Gelatin sapi dan babi semuanya memiliki puncak pada $3500\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$ dan $3000\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$ yang melebar, milik vibrasi stretching -OH dan -NH. Hal yang sedikit membedakan adalah intensitasnya. Sebagaimana tampak pada Gambar 4.4 (data selengkapnya dapat dilihat pada lampiran), pada sampel gelatin konsisten memiliki puncak melebar dengan intensitas yang tinggi. Terdapat satu sampel gelatin sapi dan babi yang memiliki penampakan spektra yang signifikan berbeda dengan sembilan sampel gelatin yang lain sebagaimana tampak pada gambar 4.5. Ketika spektra satu sampel gelatin anomali ini dibandingkan dengan spektra rambak yang konsisten memiliki puncak melebar yang intensitas yang relatif lebih rendah, terdapat kemiripan yang tinggi. Intensitas puncak ini tampaknya terkait dengan banyak sedikitnya gugus -OH yang terdapat dalam sampel, peningkatan jumlah gugus -OH terutama berasal dari kadar air yang terkandung dalam sampel. Meskipun semua sampel untuk identifikasi FTIR telah dikeringkan pada batas keumuman, tetapi tiap-tiap sampel tetap memiliki kandungan air yang berbeda-beda. Pada sembilan sampel gelatin sapi dan babi dan kikil sapi dan babi, terlihat bahwa kadar air yang terkandung dalam sampel cukup tinggi, hal ini karena penyiapan gelatin dilakukan pemanasan untuk pengeringan dalam waktu yang relatif umum dan kikil melalui tahap perebusan sehingga membentuk fasa semacam gel yang tampak dari penampakan fisiknya yang bersifat agak transparan, lengket dan kenyal. Di dalam suatu gel, air akan terjebak di dalam matriks protein dan pengeringan biasa tidak akan dapat melepaskan air dalam matriks tersebut.

Dalam sampel satu gelatin sapi dan babi yang anomali dan rambak, memiliki intensitas puncak pada $3500\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$ dan $3000\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$ relatif lebih rendah. Hal ini terkait jumlah gugus -OH yang berasal dari H_2O yang juga lebih sedikit dibanding kikil dan sembilan sampel gelatin yang lain. Pada penyiapan sampel rambak tidak ada proses perebusan sehingga sampel tidak membentuk fasa gel, yang terjadi adalah proses perendaman dalam larutan kapur (CaOH_2) dengan sedikit kandungan CaCO_3 serta larutan NaCl . Ion-ion kalsium, Na^+ dan Cl^- serta gas CO_2 dari CaCO_3 akan terdeposit selama perendaman, hal ini tampak pada penampakan fisik kulit setelah perendaman yang bersifat kaku dan berwarna putih pucat berbeda dengan penampakan

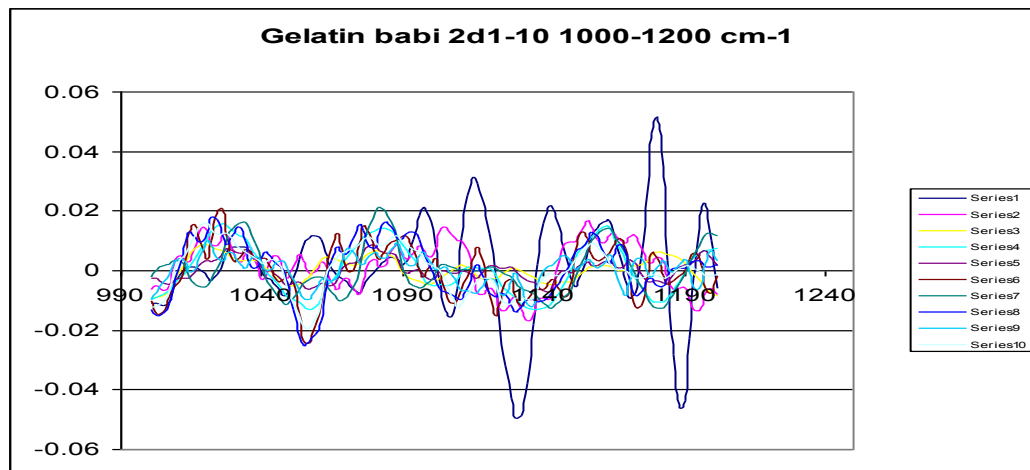
kulit segar yang bersifat lentur dan berwarna putih kemerahan. Garam NaCl juga akan mendehidrasi kulit sehingga kandungan air dalam kulit akan berkurang, disamping akan membersihkan rongga-rongga yang ada dalam sampel dari pengotor-pengotor. Proses pemanasan selama penggorengan akan membuat gas CO₂ terlepas dari kulit dengan meninggalkan bentuk-bentuk rongga sehingga kulit menjadi berpori atau biasa kita kenal sebagai bersifat *crispy*. Sementara satu sampel gelatin anomali ini pada proses penyiapannya memang terdapat ketidakumuman pada lamanya proses pengeringan yaitu sampai 1 minggu diatas api kecil, sehingga menjadikan kandungan airnya sangat sedikit yang menghasilkan citra spektra mirip rambak.

Secara umum spektra FTIR daging, gelatin, kulit, kikil dan rambak babi dan sapi memiliki pola spektra di daerah di bawah 1400 cm⁻¹ yang hampir sama. Tetapi dari hasil penelitian terdahulu oleh Barroroh, 2009 telah ditemukan puncak-puncak halus khas yang membedakan antara daging sapi dan daging babi, demikian juga pada kulit, kikil dan rambak sapi dan babi (Kusumastuti, dkk, 2011). Jadi dapat diduga hal yang sama juga akan dapat ditemukan pada sampel gelatin sapi dan babi dalam penelitian ini. Pencarian puncak-puncak halus khas gelatin sapi dan babi akan dilakukan dengan mengolah data spektra FTIR dalam bentuk transmittan menjadi bentuk turunan keduanya atau dikenal dengan metode Second Derivative.

4.3. Identifikasi Pola Khas Spektra FTIR Gelatin melalui Metode Second Derivative.

Metode Second Derivative pada dasarnya akan memperbesar resolusi pemisahan puncak-puncak spektra yang saling bertumpukan. Tetapi penggunaan metode ini juga harus dilakukan secara berhati-hati, karena jika tidak akan dapat memberikan hasil analisa yang bias. Untuk data spektra asli yang banyak mengandung noise, dapat saja puncak-puncak noise akan menjadi lebih terlihat ketika dilakukan second derivative. Hal ini tampaknya terjadi pada sampel dalam penelitian ini. Pembuatan spektra FTIR dalam penelitian ini hanya menggunakan scan sebanyak 20 kali, jumlah scan sebanyak ini adalah jumlah scan yang biasa digunakan dalam analisa FTIR komersial dalam

laboratorium-laboratorium spektroskopi IR. Sehingga hasil spektra dalam penelitian ini memberikan tantangan dalam hal pemilahan puncak noise dan bukan noise. Kehadiran noise dapat dilihat pada contoh Gambar 4.6.



Gambar 4.6. Turunan kedua spektra FTIR gelatin babi pada bilangan gelombang 1000-1200 cm^{-1} , serie 1-10 adalah ulangan.

Pada bilangan gelombang 1000-1200 cm^{-1} , kesepuluh spektra tersebut sesungguhnya memiliki 3 lembah dan 3 puncak tetapi terdapat puncak-puncak halus pada masing-masing spektra yang merupakan noise. Noise dapat berasal dari tegangan listrik yang tidak konstan selama proses scanning, untuk menghilangkan efek noise dapat dilakukan dengan menambah jumlah scan yang lebih banyak sehingga hasil rata-rata spektra dapat lebih halus.

Kurva turunan kedua (2D) spektra FTIR gelatin sapi dan babi dibuat dengan bantuan program Resolution Pro Varian. Turunan kedua dibuat langsung dari data % transmittan. Secara umum daerah spektra dibagi 4 untuk lebih dapat melihat puncak-puncak 2D spektra. Secara umum tampak bahwa pada masing-masing daerah spektra terdapat puncak-puncak yang identik pada kedua sampel, juga terdapat beberapa puncak yang berbeda. Pada rentang bilangan gelombang 400-1000 cm^{-1} dan 1000-2000

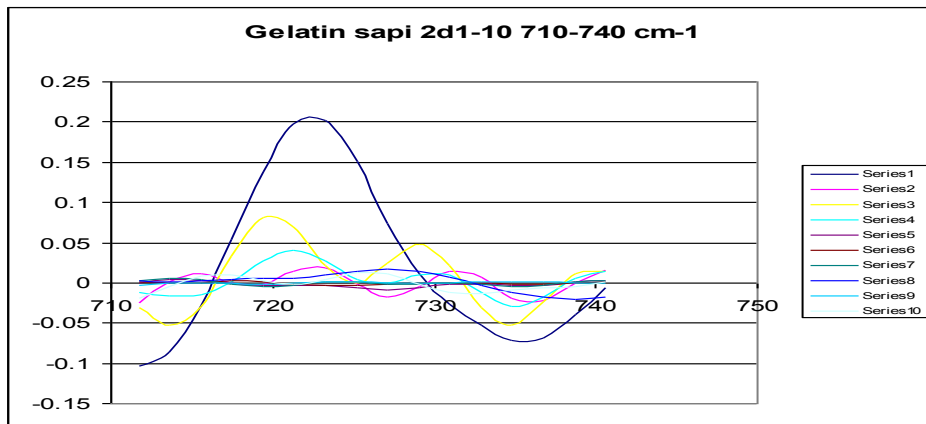
cm^{-1} terdapat lebih banyak puncak spektra 2D yang berbeda daripada yang identik dari spektra gelatin sapi dan babi. Pada rentang bilangan gelombang $2000\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ dan $3000\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ sebaliknya lebih banyak ditemukan puncak spektra yang identik pada kedua sampel gelatin sapi dan babi tersebut dari pada puncak yang berbeda.

Keidentikan maupun perbedaan puncak spektra 2D didasarkan pada posisi puncak pada bilangan gelombang bukan pada intensitas puncak. Hal ini dikarenakan posisi puncak pada bilangan gelombang merupakan wujud dari nilai frekuensi vibrasi yang berbeda. Nilai frekuensi yang berbeda merupakan wujud dari vibrasi gugus atau bagian molekul atau molekul secara keseluruhan yang berbeda. Sementara intensitas puncak lebih memberikan makna tentang jumlah relatif serapan yang menunjukkan jumlah relatif banyaknya gugus atau cluster bagian molekul atau molekul secara keseluruhan yang memiliki moda vibrasi yang memiliki frekuensi tertentu.

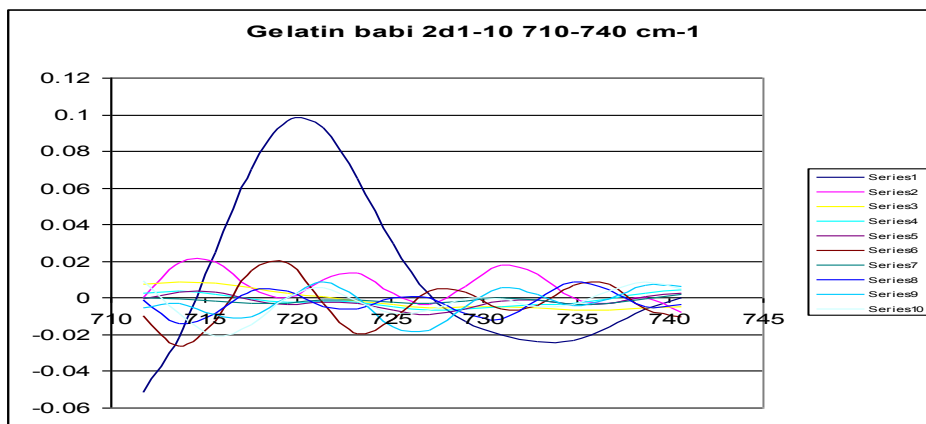
Melalui analisa second derivative pada seluruh sampel gelatin sapi dan babi dapat diperoleh puncak puncak khas untuk sampel sapi dan babi sebagaimana berikut:

4.3.1. Pola Khas Turunan Kedua Spektra FTIR Gelatin Sapi dan Babi

Gambar pola khas turunan kedua spektra FTIR gelatin sapi dan babi sebagaimana terdapat dalam gambar 4.7 sampai 4.9.



a. Gelatin sapi

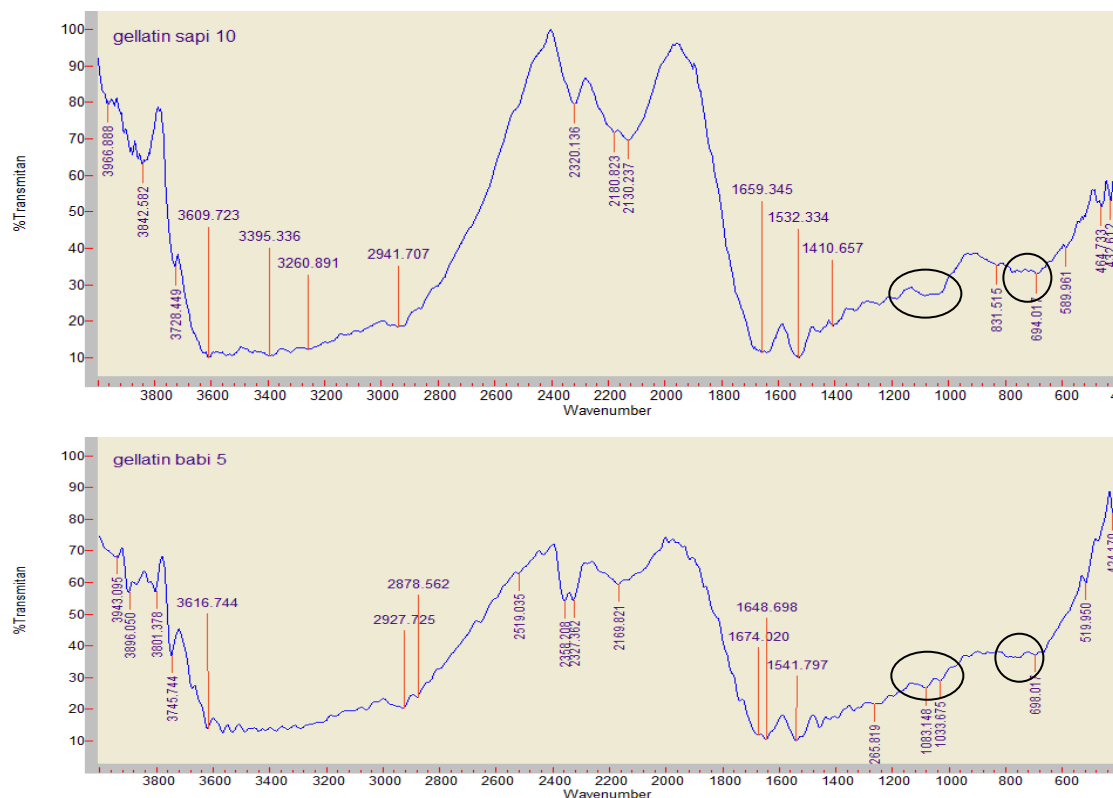


b. Gelatin babi

Gambar 4.7. Pola khas turunan kedua spektra FTIR kulit sapi dan babi pada bilangan gelombang 730-740 cm^{-1}

Terdapat pola khas turunan kedua spectra FTIR gelatin sapi dan babi yang berbeda pada rentang bilangan gelombang 730-740 cm^{-1} . Pada sample gelatin sapi pada rentang bilangan gelombang ini kurva turunan kedua spectra FTIRnya memiliki bentuk minimum, atau membentuk pola satu lembah yang cukup konsisten. Dari 10 ulangan hanya terdapat 1 data yang anomali. Sementara pada sample gelatin babi pada rentang bilangan gelombang ini tidak didapati bentuk kurva yang konsisten secara signifikan. Tampaknya pada turunan kedua spektra FTIR gelatin babi pada rentang bilangan gelombang ini, variasi kurva yang ada berasal dari noise.

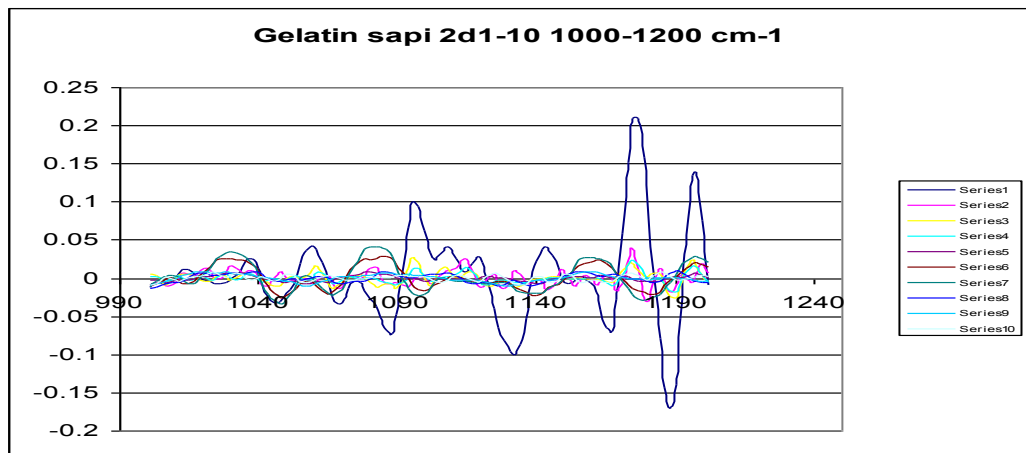
Puncak pada bilangan gelombang 730-740 cm^{-1} berada di daerah finger print sehingga kemungkinan besar merupakan vibrasi breathing sebuah fragmen molekul. Puncak ini memiliki intensitas medium, dapat berasal dari vibrasi rocking CH_2 , maupun stretching C-S pada metil-sulfida ataupun alifatik-disulfida. Pada daerah ini juga dapat bertumpukan dengan jenis vibrasi NH_2 deformasi.



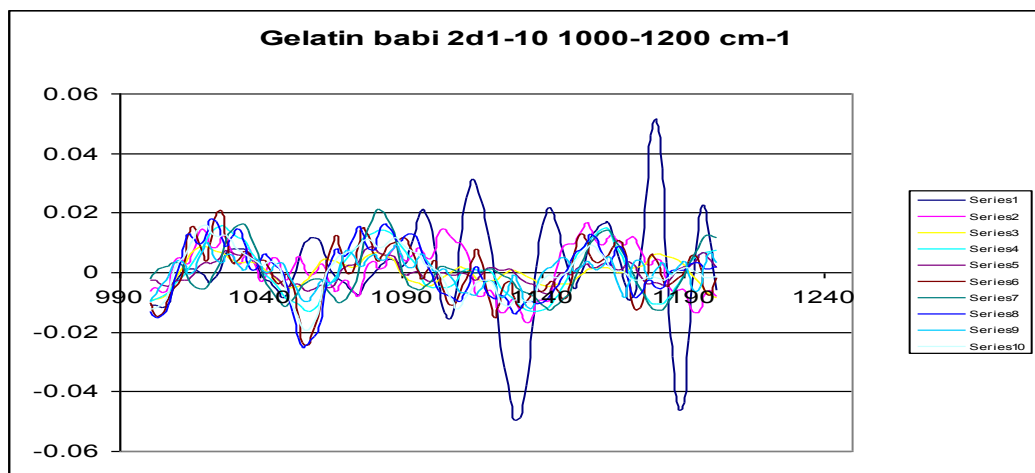
Gambar 4.8. Posisi puncak pola khas spektra FTIR gelatin sapi yang berbeda dengan gelatin babi pada rentang 730-740 cm^{-1} dan 1030-1080 cm^{-1} .

Puncak khas kedua pada pola turunan kedua spektra FTIR gelatin sapi dan babi terletak pada rentang bilangan gelombang 1030-1080 cm^{-1} . Pada turunan kedua spektra gelatin sapi tidak tampak adanya puncak atau lembah secara signifikan, kurva yang ada dapat berasal dari noise alat. Sementara pada turunan kedua spektra gelatin babi dapat terlihat adanya pola satu buah lembah, meskipun tetap dengan adanya noise pada kurva

daerah tersebut. Identifikasi jenis vibrasi menunjukkan bahwa daerah ini termasuk dalam daerah finger print sehingga dapat merupakan vibrasi fragmen molekul yang agak kompleks. Puncaknya bersifat medium agak kuat (m-s), dapat berasal dari vibrasi terkait stretching C-O-C dari asam karboksilat alifatik jenuh, atau vibrasi cincin aromatik.



a. Gelatin sapi



b. Gelatin babi

Gambar 4.9. Pola khas turunan kedua spektra FTIR kulit sapi dan babi pada bilangan gelombang 1030-1080 cm^{-1}

Secara umum dapat dilihat pola spektra FTIR gelatin sapi dan babi mirip dengan pola spektra FTIR kikil dan rambak sapi dan babi dan agak sedikit berbeda dengan pola spektra daging sapi dan babi khususnya pada daerah finger print. Ketiga bahan gelatin, kikil, rambak dan daging adalah bahan makanan yang secara tradisional memiliki penampakan yang berbeda tetapi ketiganya mengandung bahan dominan berupa protein. Daging umumnya merupakan kumpulan dari protein-protein globular

yang secara struktur tersier dan kuarterner berbeda dengan gelatin yang berupa fibril untaian helix yang hanya memiliki struktur primer dan sekunder. Sehingga menjadi dapat dipahami jika pola spektra finger print gelatin dan daging berbeda. Ternyata keunikan muncul pada pola spektra FTIR gelatin dan kikil serta rambak sapi dan babi yang memiliki tingkat kemiripan yang tinggi pada daerah finger print. Secara penampakan fisik ketiga bahan ini berbeda, gelatin berupa serbuk, kikil tampak seperti potongan gel dan rambak berupa struktur rapuh berpori. Akan tetapi secara struktural kimiawi tampaknya ketiganya memiliki kesamaan, dilihat dari kemiripan pola spektra pada daerah finger printnya. Hal ini mungkin saja benar adanya karena meskipun protein gelatin berasal dari tulang sementara kikil dan rambak berasal dari bagian kulit hewan, akan tetapi ketiganya melewati proses pengolahan yang hampir sama, yaitu pada perlakuan perendaman dengan kapur dan perebusan. Sehingga protein gelatin dari tulang akan terurai menjadi bentuk fibril helix yang panjang, sementara protein struktural kulit untuk kikil dan rambak memang merupakan bentuk fibril helix yang panjang.

BAB V

KESIMPULAN

5.1. Kesimpulan

1. Terdapat pola khas spektra FTIR turunan kedua gelatin sapi dan babi yang berada pada bilangan gelombang: $730\text{-}740\text{ cm}^{-1}$ dan $1030\text{-}1080\text{ cm}^{-1}$.
2. Spektra khas diduga berada pada daerah vibrasi yang terkait dengan gugus sulfida serta stretching CH_2 , dan vibrasi terkait stretching C-O-C dari asam karboksilat alifatik jenuh, atau vibrasi cincin aromatik akibat lingkungan yang berbeda.

5.2. Saran

1. Perlu dilakukan uji turunan kedua spektra dengan scan yang lebih tinggi untuk menghindari noise.

DAFTAR PUSTAKA

- Apriyantono, Anton, 2009, **Masalah Halal: Kaitan Antara Syar'i, Teknologi dan Sertifikasi**, http://www.indohalal.com/doc_halal2.html.
- Astawan, M., 2004, **Mengapa Kita Perlu Makan Daging?**, Kompas Cyber Media, Jumat, 7 Mei 2004.
- Badan Ketahanan Pangan Propinsi Sumatera Utara, 2009, **Bahan Makanan Sumber Protein Hewani**, Badan Ketahanan Pangan - Bahan Makanan Sumber Protein Hewani.mht.
- Barroroh, H., 2009, **Identifikasi Pola Spektra Infra Merah Khas protein Daging Sapi dan Babi Menggunakan Metode *Second Derivative* (2D)**, Laporan Penelitian, Lemlitbang UIN Malang.
- Barroroh, H., 2010, **Identifikasi Pola Khas SpektraInfra merah protein Daging Sapi dan Babi Olahan Menggunakan Metode 2D**, Laporan Penelitian, Kementrian Agama RI.
- Boes, E., 2000, **Analisis Protein Daging Babi Tercampur Daging Sapi Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dan Secara Elektroforesis**, Tesis Magister Kimia, ITB Central Library.
- Brisdon, A.K, 1998, **Inorganic Spectroscopic Methods**, New York: Oxford University Press Inc.
- Hayati, E. K., 2007, **Dasar - Dasar Analisis Spektroskopi**, Malang: Kantor Jaminan Mutu Universitas Islam Negeri Malang.
- Jaswir, Irwandi, 2006, **Metode Cepat Analisa Lemak Babi dengan FTIR**, www.beritaiptek.com.
- Jaswir, Irwandi, 2007, **Memahami Gelatin**, www.beritaiptek.com.
- Khopkar, S.M, 1990, **Konsep Dasar Kimia Analitik**, UI-press, Jakarta.
- Kusumastuti, A., Barroroh, H., Hakim, A., 2011, **Identifikasi Pola Khas Spektra Infra Merah Protein Kulit, Kikil dan Rambak Babi dan Sapi**, Laporan Penelitian Kompetitif Kelompok Kementrian Agama RI.
- Lehninger, A.L., 1982, **Dasar-dasar Biokimia**, Jilid I, Alih bahasa Thenawidjadja M., Erlangga, Jakarta.
- M. M. Mossoba, J. K. G. Kramer, V. Milosevic, M. Milosevic and H. Azizian, 2007, **Interference of Saturated Fats in the Determination of Low Levels of *trans* Fats (below 0.5%) by Infrared Spectroscopy**, Journal of the American Oil Chemists' Society, Volume 84, Number 4 / April, 339-342.

- Matsjeh, S.;Ratmoko, S, 2001, **Penentuan kadar lemak Babi dalam lemak sapi menggunakan spektrofotometri infra merah dan kromatografi gas cair**, Prosiding seminar nasional kimia, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Page, D.S., 1997, **Prinsip-Prinsip Biokimia**, edisi kedua diterjemahkan oleh R. Soendoro, Erlangga: Surabaya.
- Poejiadi, A., 1994, **Dasar-dasar Biokimia**, UI Press; Jakarta.
- Purwaningsih, A., 2007, **Identifikasi Protein Daging Sapi Dan Babi Dengan Elektroforesis Gel Poliakrilamid-Sodium Dodesil Sulfat (Sds-Page)**, ADLN Digital Collections, /Top / Unair Thesis / Ilmu Farmasi / jiptunair-gdl-s3-2005-purwanings-1625.
- Sastrohamidjojo, H, 1992, **Spektroskopi Inframerah**, Yogyakarta: Liberty.
- Socrates, G., 1994, **Infrared Characteristic Group Frequencies**, Chicester, New York, Brisbane, Toronto.
- Stephen R. Delwiche ,Lester O. Pordesimo, Dilip R. Panthee and Vincent R. Pantalone, 2007, **Assessing Glycinin (11S) and β -Conglycinin (7S) Fractions of Soybean Storage Protein by Near-Infrared Spectroscopy**, Volume 84, Number 12 / December, 1107-1115.
- Sumarno, 1995, **Analisis beberapa lemak hewani dengan kromatografi gas spektrometer massa = Mass Spectrometric Analysis of Animals Fats**, Majalah Farmasi Indonesia, 1995, VI(4), Inherent Digital library.
- Sumartini, Sri, 2002, **Analisa Lemak Babi dalam makanan dengan GCMSMS, Database Riset IPTEK**, <http://www.dbripteck.ristek.go.id/cgi/penjaga.cgi?datalembaga&997523548>.
- Susanto E., 2005, **Identifikasi Pencampuran Daging Dalam Baso**, Republika, Jumat, 28 Oktober 2005, (halalmui.or.id/Republika).
- Underwood A. L. & Day, R.A., 2002, **Analisis Kimia Kuantitatif**, alih bahasa sopyan, Erlangga, Jakarta.
- Wirahadikusumah, M, 1997, **Biokimia; Protein, Enzim, dan Asam Nukleat**, ITB; Bandung.